

EINE MODIFIZIERTE RADIOIMMUNOLOGISCHE METHODE
DER ANTIKÖRPERBESTIMMUNG
GEGEN DAS WACHSTUMSHORMON,
ANGEWANDT BEI 40 MINDERWÜCHSIGEN KINDERN
MIT UND OHNE WACHSTUMSHORMONTHERAPIE

Dimitrios Clados

1975

Aus der Universitätskinderklinik München

Direktor: Prof. Dr. K. Betke

Eine modifizierte radioimmunologische Methode
der Antikörperbestimmung gegen das Wachstums-
hormon, angewandt bei 40 minderwüchsigen Kin-
dern mit und ohne Wachstumshormontherapie

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten

Medizin

an der Ludwig Maximilians-Universität zu

München

vorgelegt von

Dimitrios Clados

aus

Athen

1975

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Priv.-Doz.Dr.O.BUTENANDT
Korreferent: Prof.Dr.K.BETKE
Dekan: Prof.Dr.W.SPANN

Tag der mündlichen Prüfung: 16.12.1975



INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
Einleitung	1
Materialien und Methoden	4
Krankengut	9
HGH-Therapie	17
Ergebnisse	21
Ergebnisse der Antikörperuntersuchung	21
Diskelektrophorese	30
Diskussion	33
Zusammenfassung	44
Literaturangaben	46



Digitized by the Internet Archive
in 2026

E I N L E I T U N G

Entwicklung und regelrechtes Wachstum des Körpers sind von einer Reihe von Faktoren abhängig wie der Zufuhr einer vollwertigen Nahrung mit allen essentiellen Aminosäuren, Fettsäuren und Vitaminen, - vor allem aber von dem geordneten Zusammenspiel der hormonellen Einflüsse, wobei das Wachstumshormon, Thyroxin und Insulin und ab der Pubertät die Androgene und Östrogene eine entscheidende Rolle spielen (25). Ein Ausfall eines oder mehrerer dieser Hormone kann zu Kleinwuchs bzw. Zwergwuchs führen, sofern es nicht von außen substituiert wird. (2, 3, 4, 48, 51).

1956 gelang es Li und Papkoff (27) erstmalig, menschliches Wachstumshormon rein darzustellen; 1958 berichtete Raben über die ersten Erfolge der HGH-Therapie bei einem Patienten mit hypophysärem Zwergwuchs (35). Es ist erwiesen, daß nur das homologe Wachstumshormon beim Menschen die wachstumsstimulierenden und typischen metabolischen Eigenschaften zeigt, während die Wirksamkeit von Wachstumshormon tierischer Herkunft infolge Antikörperbildung rasch abnimmt (9, 11, 23). Da HGH (human growth hormone) bis heute noch nicht synthetisiert werden kann, ist man nach wie vor auf die Extraktion des Hormons aus menschlichen Leichenhypophysen angewiesen. Der technische Fortschritt in den letzten Jahren hat zahlreiche neue Methoden zur Isolierung von HGH mit sich gebracht (27, 35, 37, 40, 52, 57). Durch die verschiedenen Extraktionsverfahren bedingt, zeigen die einzelnen Präparationen Unterschiede im Reinheitsgrad und in der Homogenität, was sich in verschiedener Hinsicht bemerkbar macht und später besprochen

werden soll (5, 14).

Vor Beginn einer HGH-Therapie muß die Ursache des Minderwuchses geklärt werden, denn nur bei Kindern mit tatsächlichem Wachstumshormonmangel ist eine kausale Therapie mit HGH sinnvoll und erfolgversprechend. Zu den diagnostischen Maßnahmen zählen v.a. der Insulintoleranztest, bei dem die HGH-Sekretionsreserve der Hypophyse unter Stressbedingungen erfaßt wird, der Stickstoffretentionstest, der die anabole Wirkung des zugeführten HGH-Präparates beim einzelnen Patienten angibt, weiterhin die Röntgenkontrolle des Knochenalters und die Geburts- und Familienanamnese.(3, 13, 20). Nach der Sicherung der Diagnose und Indikation zur HGH-Therapie muß die Wahl des am besten verträglichen HGH-Präparates erfolgen. Die klinischen Beobachtungen und Erfahrungen haben gezeigt, daß 2 Injektionen à 5 IE (=2mg) pro Woche ausreichen, um eine Steigerung der Wachstumsgeschwindigkeit zu bewirken.(3).

Die Langzeitbehandlung des hypophysären Zwergwuchses brachte ein neues Problem mit sich: bei einigen Kindern entwickelte sich - meist nach anfänglichem gutem Therapieerfolg - eine Resistenz gegen das verabreichte Hormon, verursacht durch die Entwicklung von Antikörpern gegen menschliches Wachstumshormon. Als erste beobachteten Szeky u. Mitarb. (50) das Auftreten von Antikörpern (AK) im Plasma von einem von 77 mit HGH-Raben behandelten Kindern mit hypophysärem Zwergwuchs. Weitere Berichte über das Auftreten von AK unter Behandlung mit HGH-Raben (9, 17, 18), HGH-Li (11) und HGH-Reisfeld (38) folgten. AK können nach einigen Wochen oder erst nach Jahren auftreten (32); sie führen i.a. nur dann zu einer Resistenz gegen die HGH-Therapie, wenn sie im Plasma hoch-

titrig vorliegen (18). Es scheint, daß bei einem Teil der Kinder das Vorkommen von AK gegen HGH mit Verunreinigungen im applizierten Wachstumshormonpräparat zu erklären ist. In solchen Fällen sinkt der AK-Gehalt im Blut rasch ab, wenn das HGH-Präparat gewechselt oder die Therapie für kürzere Zeit unterbrochen wird (18).

Andere Kinder unterscheiden sich von den oben genannten dadurch, daß sie kurz nach Beginn einer HGH-Behandlung hochtitrige AK bilden, die auch nach Absetzen des Präparates lange im Blut nachweisbar sind. Man vermutet, daß solche Kinder nie eigenes Wachstumshormon gebildet haben und deshalb keine natürliche Immuntoleranz gegen homologes HGH besitzen. Exogen zugeführtes Wachstumshormon wird als Fremdeiweiß betrachtet und durch AK-Bildung neutralisiert (3, 19). Diese Form des Wachstumshormonmangels (pränataler HGH-Mangel) wird autosomal rezessiv vererbt. Durch die Familienanamnese werden meist weitere Fälle von Minderwuchs im Verwandtenkreis aufgedeckt.

In der vorliegenden Arbeit wurden AK gegen HGH mit einer neuen, vereinfachten Methode radioimmunologisch bestimmt. Zur Kontrolle stand ein Serum mit hohem AK-Gehalt (Typus-A-Serum von Kindern mit pränatalem HGH-Mangel (18, 19)) zur Verfügung. Die AK-Untersuchung erstreckte sich auf 45 Personen, von denen 34 mit HGH behandelt wurden. Ursachen und Folgeerscheinungen der AK-Bildung werden besprochen. Besonderes Augenmerk wird auf die Kinder mit familiärem Wachstumshormonmangel gerichtet. Die einzelnen HGH-Präparate wurden hinsichtlich ihrer wachstumsstimulierenden Wirkung, ihrer antigenen Eigenschaften und ihres Reinheitsgrades (Disklektrophorese) verglichen.

M A T E R I A L I E N und M E T H O D E N

Bestimmung der Antikörper

Zur Antikörperbestimmung wurden den Testpersonen ca 6 ml venöses Blut entnommen, welches durch Zentrifugieren das nötige Serum lieferte. Alle Seren wurden, obwohl nicht unbedingt erforderlich, bei -20°C eingefroren und konnten somit in späteren Bestimmungsansätzen wieder verwendet werden.

Für die radioimmunologische Bestimmung der AK wurden folgende Reagenzien verwendet:

1% Human Serum Albumin

Borat-Puffer 0,13M; pH 8,4; mit 0,5% bovinem Serum Albumin

125-J markiertes HGH, von der Firma Sorin/Italien oder Wilhelmi HG-Referenz Charge Preparation von Dr.v.Werder (II.Med.Univers.Klinik München), NIH-HGH HS 1394 (2IU hGH, 6IU Prolactin biologische Aktivität/mg)

Kaninchen-Antiserum gegen menschliches g-Globulin, Fa Behring

Patientenserumverdünnung; das Patientenserum wurde mit Puffer auf Verdünnungen von 1:100; 1:1000; 1:2000; 1:4000; 1:10000; 1:50000; 1:100000 und 1:1000000 gebracht.

Der Testablauf war folgender:

0,1 ml des jeweiligen verdünnten Patientenserums wurde mit 0,1 ml markiertem HGH, 0,1 ml Pufferlösung und 0,1 ml Human Serum Albumin entweder 24 Stunden lang bei 37°C oder 4 Tage lang bei 4°C inkubiert. Anschließend wurde das Kaninchen-Antiserum einpipettiert und das Lösungsgemisch nochmals 24 Stunden lang bei 37°C oder 4°C inkubiert. Die Trennung von

freiem und gebundenem HGH erfolgte durch Filtration. Hierfür wurden die Membranfilter (40x230) der Firma Sartorius, Göttingen, W. Germany verwendet. Die Röhrchen wurden gründlich mit Hämaccel nachgewaschen. Die Radioaktivität der Filterblättchen wurde im γ -Counter der Fa. Friessecke-Hoepfner gemessen, jedes jeweils 10 Minuten lang. Die ganze Serie wurde mehrere Male gezählt.

Von den Patienten 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 20, 24, 36, 44 und 45 wurde jeweils eine vollständige Verdünnungsreihe angesetzt. Da nur bei Patientin 20 höhere AK-Titer gefunden wurden, wurde das Serum in der Universitätskinderklinik Zürich freundlicherweise nochmals auf AK untersucht. Der Befund stimmte mit den eigenen Ergebnissen überein.

Für die weiteren eigenen AK-Untersuchungen wurde uns freundlicherweise aus Zürich ein Serum mit nachgewiesenem hohem Antikörper-Gehalt (Typus-A-Serum, s. unten) zugesendet, welches ab diesem Zeitpunkt als Kontrollserum diente. Da sich in der Verdünnungsreihe des Züricher Serums und des Serums von Patientin 20 herausstellte, daß jeweils die höchsten AK-Titer bei den Verdünnungen von 1:4000 und 1:10000 gemessen wurden, wurde bei den weiteren AK-Untersuchungen nur noch mit den beiden oben genannten Serumverdünnungen gearbeitet. Alle Serumproben wurden anfangs dreifach, später nur noch zweifach angesetzt.

Um die für die weiteren Berechnungen relevante Countzahl zu erhalten, wurde der Leerwert (Countzahl in einem antikörperfreien Serum) von der jeweils in einem Filterblättchengemessenen Aktivität abgezogen. Die Aktivität der einzelnen Patientenserum konnte dann auf die des Serums aus Zürich bezogen werden, dessen Countzahl gleich 100% gesetzt

wurde. Miteinander wurden nur die Seren mit gleicher Verdünnung verglichen, also nur jeweils alle 1:4000 oder alle 1:10000 verdünnten Seren.

Diskelektrophorese

Um den Reinheitsgrad der verschiedenen therapeutisch verwendeten HGH-Präparationen zu prüfen, wurde eine diskontinuierliche Polyacrylamidgel-Elektrophorese nach Tympner (54) durchgeführt. Zur Ausführung des Tests stellten sich freundlicherweise Tympner und seine Mitarbeiter aus der Universitätskinderklinik München zur Verfügung.

Die Elektrophorese bewirkt eine Trennung von Eiweiß in Polyacrylamidgel. Die Trennung findet zwischen zwei verschiedenen Puffern statt, und zwar zwischen einem Gel- und einem Elektrodenpuffer (Tris-Glycin-Puffer pH 9 als Elektrodenpuffer und 0,33M Trispuffer pH 8 als Gelpuffer). Die Probe wird auf die Gelschicht aufgetragen und bei 70 Volt und einer Stromstärke von 60 bis 70 mA in etwa 2 Stunden aufgetrennt. Im Anschluß an die elektrophoretische Trennung werden die Gelröhrchen gefärbt (Färbelösung: Coomassie brilliant-blue R 250, Hersteller: Serva, Heidelberg). Der Farbstoff, das Brillant-Blau, wird zu 0,25% in 20% Trichloressigsäure gelöst. Die Gele bleiben ca 2 Stunden in der Färbelösung. Danach werden sie mit einer 7% Essigsäure-Lösung entfärbt. - Die Größe der Kolumnen liegt bei 0,7 x 7 cm.

Die elektrophoretische Mobilität richtet sich nach der Molekulargröße. Je kleiner ein Molekül ist oder je negativer es geladen ist, um so mehr wandert es zur Anode. Beide Faktoren, die Molekulargröße und die Ladung, bestimmen die Lage der Banden. Ein scharf begrenztes Band läßt auf einen ho-

mogenen Aufbau des Eiweisses schließen, ein breites Band bedeutet uneinheitliche Zusammensetzung der untersuchten Probe. Es ist gleichgültig, ob sich das Band am Anfang der Kathode oder in der Nähe der Anode befindet; das Entscheidende an diesem elektrophoretischen Vorgang ist die scharfe Begrenzung des Bandes.

Für die elektrophoretische Untersuchung wurden jeweils 20 Mikroliter HGH aufgetragen, die steril aus den für die HGH-Injektionen zur Verfügung stehenden Ampullen entnommen waren. Foldende HGH-Präparationen wurden in doppelter Ausführung untersucht: In den Säulen

- 1+2: Wilhelmi HG-Referenz Charge Preparation von Dr.v.Werder, NIH-HGH HS 1394 (2 IU hGH, 6 IU Prolactin, biologische Aktivität/mg)
- 3+4: HGH-Raben ~~27~~ 27
- 5+6: HGH-Reisfeld (Sotropin-H, Arzneimittelwerk Dresden)
- 7+8: HGH-Roos (Crescormon, deutsche Kabi GmbH)

Insulintoleranztest

Den Patienten, die mindestens 12 Stunden lang nüchtern sein mußten, wurde 0,1 U/kg Altinsulin intravenös injiziert. Blutproben zur Wachstumshormon- und Blutzuckerbestimmung wurden 20 Minuten sowie unmittelbar vor der Insulininjektion und alle 20 Minuten in den folgenden 2 Stunden abgenommen. Das Wachstumshormon selbst wurde radioimmunologisch nach einer Doppelantikörpermethode unter Verwendung der dafür hergestellten Reagenzien der Firma Sorin/Italien bestimmt.

Die Ergebnisse des Insulintoleranztests sowie des im folgenden beschriebenen Stickstoffretentionstests

wurden mir freundlicherweise von Dr.O.Butenandt überlassen.

Stickstoffretentionstest

Der Stickstoffretentionstest wurde nach den Angaben von Prader u. Mitarb.(33) durchgeführt. Butenandt beschreibt ihn wie folgt (4, S.266):

" Die Kinder erhielten eine in Calorien und Eiweißgehalt konstant gehaltene Kost über 10 Tage. Die mittlere Gesamtausscheidung von Harnstoff-Stickstoff während des 2.-5. Tages der Testperiode diente als Kontrollwert. Vom 6. bis einschließlich 10. Tag verabreichten wir 2 mg humanes Wachstumshormon (HGH) Raben (21) bzw. HGH-Roos (23) täglich intramuskulär. Die mittlere Gesamtausscheidung des Harnstoff-Stickstoffes während des 7.-10.Tages der Testperiode wurde mit den Werten der Kontrollperiode verglichen. Zur Berechnung der Stickstoffretention unter HGH diente folgende Formel:

$$\text{Stickstoffretention(\%)} = \frac{(U_B - U_H) \cdot 100}{U_B}$$

U_B = mittlere tägliche Stickstoffausscheidung während der Kontrollperiode (Basiswert)

U_H = mittlere tägliche Stickstoffausscheidung während der Hormonbehandlung. "

K R A N K E N G U T

Die Antikörperuntersuchung erstreckte sich auf 40 Patienten; 37 von ihnen kamen aus der Universitätskinderklinik München und 3 aus der Universitätskinderklinik Münster. Zusätzlich wurden von Patientin 20 und den Zwillingsschwestern 30 und 31 beide Elternteile, von den Brüdern 7 und 8 nur die Mutter der gleichen Antikörperuntersuchung unterzogen.

Das Patientengut setzte sich aus 14 Mädchen und 26 Knaben zusammen. Das Alter der Patienten lag zum Zeitpunkt der Antikörperbestimmung zwischen 4 und 19 Jahren. Die Patienten 19 und 35 waren bereits in die Pubertät eingetreten. Zur Verhinderung des pubertären Wachstumsschubs und des damit verbundenen Epiphysenfugenschlusses waren sie zeitweise mit Antigestagenen behandelt worden.

Da die Behandlung mit menschlichem Wachstumshormon sehr kostspielig ist und das Hormon auch nur in begrenzter Menge zur Verfügung steht, muß die Indikation zur Hormontherapie sehr sorgfältig gestellt werden. Dies setzt eine genaue Diagnostik der Ursachen des Minderwuchses voraus. So wurde bei 16 Patienten und bei den Eltern von Patientin 20 ein Stickstoffretentionstest durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 angegeben. Die Stickstoffretention liegt bei gesunden Kindern zwischen $5,5 \pm 11\%$ und bei Kindern mit totalem Wachstumshormonmangel bei $32,6 \pm 13\%$ (4).

Zur Überprüfung der Hypophysenfunktion wurde bei 37 Kindern ein Insulintoleranztest durchgeführt. 26 Kinder zeigten überhaupt keinen Anstieg des HGH, 7 Kinder hatten einen geringen Anstieg des

Wachstumshormons auf Werte zwischen 2 und 6 ng/ml und bei 4 Kindern lag die HGH-Sekretion im Normbereich.

Wenn während eines Provokationstests mit Insulin oder Arginin kein Anstieg des HGH zu verzeichnen ist, wie bei den oben erwähnten 26 Kindern, wenn die HGH-Konzentration unter 2 ng/ml bleibt, liegt ein absoluter HGH-Mangel vor. Bei vielen Kindern war die Ursache ihres Wachstumshormonmangels unbekannt, bei anderen konnten anamnestisch folgende Befunde erhoben werden: Geburtstraumen durch operative Entbindungen, Beckenendlagen, Nabelschnurumschlingung, Asphyxie, spätere Traumen, Kraniaopharyngeombildung, Aplasie von Hypophyse oder Hypothalamus. Einige Patienten zeigten noch weitere endokrine Störungen. Der familiäre Hypopituitarismus der Patienten 8, 20 und 30 u. 31 wird später genauer besprochen. Alle Kinder mit totalem HGH-Mangel wurden mit Wachstumshormon behandelt. Die Patienten sprachen unterschiedlich stark auf die einzelnen HGH-Präparate an. Bei den drei Patienten 7, 12 und 19 kam es zu keiner Steigerung der Wachstumsrate unter der Behandlung.

Die Patienten 2, 3, 17, 36, 42 und 43 hatten einen partiellen Wachstumshormonmangel. Von partiellem HGH-Mangel wird dann gesprochen, wenn der HGH-Anstieg nach Stimulation im subnormalen Bereich, aber über dem Wert von Kindern mit totalem HGH-Mangel liegt, d.h. wenn die maximal erreichte Wachstumshormonkonzentration zwischen 2 und 6 ng/ml liegt. Unter exogener Wachstumshormonzufuhr zeigen die Kinder eine hohe Stickstoffretention, vergleichbar mit Kindern mit absolutem HGH-Mangel. Bei partiellem Wachstumshormonmangel ist ferner typisch, daß

die Therapie mit HGH anfänglich zu guten Erfolgen führt; später läßt die Wachstumsgeschwindigkeit merklich nach (4).

Das Serum der drei Patienten 26, 37 und 40 war zur AK-Bestimmung aus der Universitätskinderklinik Münster zugeschickt worden. Alle drei Kinder waren aufgrund ihres Minderwuchses - die Ursache der Wachstumsretardierung war in München nicht bekannt - mit HGH-Sereno (Raben) behandelt.

Die sehr seltene Diagnose Leprechaunismus (10) war bei Patient 7 gestellt worden. Die Krankheit ist charakterisiert durch verschiedene endokrine Störungen und das typische Aussehen der Patienten (Kleinwuchs, groteskes Gesicht mit kurzer Nase und tief eingesunkenen Augen; große Ohren, großes Abdomen und grobe faltige Haut an Handflächen und Fußsohlen). Die Ergebnisse seiner Wachstumshormonuntersuchungen entsprechen denen von Kindern mit partiellem HGH-Mangel: maximaler HGH-Spiegel im Insulintoleranztest von 3,5 ng/ml, Stickstoffretention von 34%. Während der kurzzeitigen Therapie mit HGH konnte eine deutlich gesteigerte Wachstumsrate gemessen werden.

Die drei Patienten 24, 25 und 44 litten unter rheumatoider Arthritis bzw. M.Still, wobei die Patientinnen 25 und 44 mit Corticosteroiden behandelt werden mußten, mit 2,0 und mit 0,3 mg Prednison/kg Woche. Die drei Kinder waren erheblich wachstumsretardiert, ihre Wachstumsrate lag zwischen 0 und 1,5 cm/Jahr. Im Insulintoleranztest hatten die Patienten 24 und 44 einen guten HGH-Anstieg; bei der Untersuchung des spontanen basalen Wachstumshormongehalts über 24 Stunden (8) wurde bei Patient 8 eine subnormale, bei den beiden anderen

Kindern eine gute Wachstumshormonsekretion bestimmt. Die Antikörperbestimmung erfolgte bei diesen Patienten aus rein wissenschaftlichem Interesse, um eventuell vorhandene Antikörper als Ursache des Wachstumsrückstandes auszuschließen.

Die Patienten 8+9 (Brüder), 20 und 30+31 (eineiige Zwillingsgeschwestern) kommen aus Familien mit gehäuft auftretendem Minder- bzw. Zwergwuchs. Hinweise auf hormonelle Störungen bei den Eltern dieser Kinder bestehen nur bei der Mutter von Patientin 20, bei der eine stark erhöhte Stickstoffretention, Störungen in der Gonadotropinsekretion und eine gesicherte Schilddrüseninsuffizienz festgestellt worden waren. Butenandt und Knorr (6) beschrieben die Familie von Patientin 20. Die oben erwähnte Mutter hat eine Körpergröße von 146 cm, der Vater, der gleichfalls aus einer Familie mit Minderwuchs stammt, - er ist selbst 158 cm groß - zeigt keine hormonellen Ausfälle. Patientin 20 kam im Alter von 5 Jahren mit einer Körpergröße von 74 cm - dies entspricht der Größe eines einjährigen Kindes - zum ersten Mal in die Sprechstunde. Die Wachstumsrate lag bei 3 cm/Jahr. Während der damaligen Behandlung mit HGH-Raben (12 mg/m² Körperoberfläche pro Woche, verteilt auf 2 Injektionen) stieg die Wachstumsrate auf 7,3 cm/Jahr an. Nach einer 1/4-jährigen Wachstumshormonzufuhr wurde eine dreimonatige Therapiepause eingelegt, in der das Wachstum sistierte. Anschließend wurde mit HGH-Raben weiterbehandelt, anfänglich mit gutem Erfolg (7,6 cm/Jahr). Bald jedoch fiel die Wachstumsrate auf Werte wie vor der HGH-Therapie ab. Im Plasma der Patientin wurden damals schon hochtitrige Antikörper festgestellt, die eine Unter-

brechung der HGH-Behandlung herbeiführten. Nach 4;6 Jahre später konnten Antikörper gegen HGH mit der in dieser Arbeit beschriebenen Methode nachgewiesen werden, was von Seiten des Universitätskinderspitals Zürich bestätigt wurde. Erst ein halbes Jahr später war der α K-Spiegel auf eine Höhe abgefallen, die mit einer Weiterbehandlung mit HGH vereinbar ist. Die HGH-Therapie wurde nicht mehr mit HGH-Ruben, sondern mit HGH-Roos weitergeführt. Die Dosierung von 5 IE pro Woche, auf 2 Injektionen verteilt, brachte den gewünschten Therapieerfolg. Die Patientin wuchs in den 25 Monaten der HGH-Roos-Behandlung um 15,75 cm, das bedeutet eine Wachstumsrate von 7,56 cm/Jahr.

Abbildung 2 zeigt das Wachstumsdiagramm der Patientin 20 mit Angaben zur Hormontherapie und Antikörperentwicklung.

Auch bei den beiden Zwillingsschwwestern 30 und 31 liegt ein familiärer Zwergwuchs vor. Patientin 30 wurde seit dem Alter von 5;9 Jahren über 19 Monate, Patientin 31 ab dem Alter von 6;4 Jahren 11 Monate lang mit HGH-Roos behandelt. Die Wachstumsrate lag bei Patientin 30 bei 6,63 cm/Jahr, bei Patientin 31 bei 10,9 cm/Jahr. Abbildung 3 zeigt das Wachstumsdiagramm, die HGH-Therapie und Antikörperentwicklung der beiden Mädchen.

Von den zwei Brüdern Nr. 8 und 9 mit Minderwuchs hatte nur Patient 8 einen absoluten Wachstumshormonmangel, während Patient 9 einen sehr guten HGH-Anstieg auf 16,0 ng/ml zeigte.

Weitere klinische Angaben zu den Patienten sind der Tabelle 1 zu entnehmen.

Tabelle 1. Klinische Angaben zu den Patienten

Pat. Nr.	Name	Alter Jh;Mo	Sex	Diagnose	Ätiologie	Insulintoleranztest HGH (ng/ml)	Stickstoffretentions- test %
1	Ar.U.	12;1	m	HGH-Mangel		kein Anstieg	43
2	Be.d.	19	m	partieller HGH-Mangel		3,6	16
3	Be.W.	20	m	partieller HGH-Mangel	Geburtsstrauma	5,0	22,5
4	Bo.D.	18	m	HGH-Mangel	Asphyxie	kein Anstieg	46
5	Bu.A.	21	m	HGH-Mangel	postnatal.Trauma	kein Anstieg	-
6	Do.J.	9	m	HGH-Mangel	Kraniopharyngeom	kein Anstieg	22
7	Ec.G.	14	m	Leprechaunismus		3,5	34
8	Ei.D.	10	m	HGH-Mangel		kein Anstieg	-
9	Ei.G.	11	m	fam.Minderwuchs		16,0	-
10	Ei.Mutter			unauffällig		50	-
11	En.S.	12	m	HGH-Mangel, Hypothyreose		kein Anstieg	-
12	Ge.R.	14	m	HGH-Mangel	Trauma mit 2 1/2 Jh.	kein Anstieg	31
13	Gö.S.	6	w	HGH-Mangel		kein Anstieg	-
14	Gr.G.	16;5	m	Hypophysenaplasie, Schilddrüsenaplasie		kein Anstieg	49
15	Ha.A.	10	m	HGH-Mangel	Kraniopharyngeom		-
16	He.C.	12	w	HGH-Mangel	Trauma	kein Anstieg	8
17	He.H.	13	m	partieller HGH-Mangel		5,6	28
18	Ho.A.	8	w	HGH-Mangel		kein Anstieg	-
19	Ho.K-H.	18	m	HGH-Mangel		kein Anstieg	-
20	Hö.S.	13	w	HGH-Mangel (erbl.)		kein Anstieg	51
21	Mutter von	20		partielle Hypophyseninsuffizienz			32
22	Vater von	20		familiärer Kleinwuchs			16

Tabelle 1. Fortsetzung

Pat. Name	Alter	Sex	Diagnose	Ätiologie	InsulinIT HGH (ng/ml)	N-Ret.test %
Nr.	Jh;Mo					
23	Hö.D. 8	w	HGH-Mangel	Geburtsstrauma?	kein Anstieg	-
24	Hö.R. 9	m	M.Still		21,9 (0,7) ^x	-
25	Ju.S. 8;5	w	Rheumatoide Arthritis		(2,2) ^x	-
26	Ke.R. 5	w	unbekannt			-
27	Kh.R. 17	m	HGH-Mangel	Nabelschnurvorfal	kein Anstieg	48
28	Kl.J. 18	m	HGH-Mangel		kein Anstieg	30
29	Kl.P. 16	w	HGH-Mangel		kein ansteig	16
30	Ma.An. 6;4	w	HGH-Mangel (erbl.)		kein Anstieg	-
31	Ma.Ar. 6;4	w	HGH-Mangel (erbl.)		kein Anstieg	-
32	Mutter von 30+31		unauffällig			-
33	Vater von 30+31		unauffällig			-
34	Mu.H. 13	m	HGH-Mangel	Asphyxie	kein Anstieg	-
35	Ne.S. 18	m	HGH-Mangel		kein Anstieg	-
36	Pi.A. 19	w	partieller HGH-Mangel	Asphyxie	4,9	-
37	Re.P. 14	m	unbekannt			-
38	Si.J. 7	m	HGH-Mangel, Hypothyreose	Geburtsstrauma	kein Anstieg	-
39	St.F. 13	m	Panhypopituitarismus		kein Anstieg	-
40	St.K-H13	m	unbekannt			-
41	Th.M. 17	w	HGH-Mangel	Hypothalamus	kein Anstieg	-
42	Un.X. 16	m	partieller HGH-Mangel		3,5	16
43	Ur.M. 11;3	m	partieller HGH-Mangel	Zangengeburt	4,3	-
44	Wa.P. 13	w	Rheumatoide Arthritis		10,1 (3,8) ^x	-
45	Wi.G. 15	m	Hypophysenvernarbung,	verstorben x=basaler	kein Anstieg HGH-Spiegel über 24 Stunden	-

Kontrollserum

Zur Kontrolle der eigenen Ergebnisse der Antikörperuntersuchungen wurde uns freundlicherweise ein Serum aus Zürich mit hohem AK-Gehalt zugeschiedt. Es wird als A-Typus (Antikörpertypus) bezeichnet (18). Illig und Mitarb. (18, 19) beschrieben eine bestimmte Form des familiären pränatalen isolierten Wachstumshormonmangels, die sie bei sechs zum Teil miteinander verwandten Kindern beobachteten. Die Patienten fielen durch 5 charakteristische Merkmale auf (vgl. 18, S. 270):

1. deutlicher Kleinwuchs schon bei Geburt, aber mit normalem Geburtsgewicht
2. frühzeitige Wachstumsverzögerung und extremer Zwergwuchs
3. charakteristisches Gesicht (puppenhaftes rundes Gesicht, stark vorgewölbte Stirn, eingezogene Nasenwurzel, kleine Nase)
4. sehr starke anabole Wirkung von menschlichem Wachstumshormon
5. starke Antikörperbildung unter Wachstumshormonbehandlung, die zu einem fast vollständigen Wachstumsstillstand führte.

Illig kommt zu folgender Schlußfolgerung (18, S. 271):

"Die Beobachtungen an diesen Patienten lassen uns vermuten, daß hier ein hereditärer, totaler *HH*-Mangel vorliegt, der sich im Gegensatz zum klassischen idiopathischen hypophysären Zwergwuchs schon intrauterin auswirkt, und der ein Fehlen der Immuntoleranz gegenüber homologem menschlichem *HH* zur Folge hat".

HGH - THERAPIE

HGH-Präparate

Seitdem 1956 erstmals die Isolierung von menschlichem HGH aus Leichenhypophysen gelang (27), wurden im Lauf der Jahre zahlreiche verbesserte Darstellungsverfahren entwickelt. Auch heute ist es noch nicht gelungen, HGH synthetisch herzustellen; man ist nach wie vor auf die Extraktion aus den menschlichen Hypophysen angewiesen.

In den letzten 10 Jahren wurden in der Kinderklinik München drei Präparate vorrangig verwendet:

HGH-Raben

HGH-Roos = "Crescormon" (Deutsche Kabi GmbH)

HGH-Reisfeld = "Sotropin H" (Arzneimittelwerk Dresden)

Die HGH-Präparationen nach Li und Wilhelmi wurden seit mehreren Jahren nicht mehr therapeutisch eingesetzt.

HGH-Raben wurde vor allem in früheren Jahren zur probatorischen und endgültigen HGH-Therapie des Minderwuchses angewandt. Wegen der bei den Patienten gehäuft auftretenden antikörperbildung (9,17, 18, 50) wurde es jedoch weitgehend verlassen. HGH-Raben wird aus azeton-getrockneten Hypophysen hergestellt. Zur Injektion wird 1 mg Puder in 0,03 ml 0,05 n Salzsäure gelöst und mit 0,97 ml physiologischer Kochsalzlösung verdünnt.

Das nach dem Roos-Verfahren (40) aus gefrorenen Hypophysen hergestellte Crescormon - 2 mg HGH/Ampulle - wird in 2 ml physiologischer Kochsalzlösung gelöst.

HGH-Reisfeld wird in einem schonenden Verfahren aus azeton-getrockneten Hypophysen gewonnen. Sotropin H, das Marktpräparat, wird in einer Ampulle mit 16 mg Puder in 2 ml Kochsalzlösung zur Injektion vorbereitet.

Tabelle 2. Übersicht über die HGH-Therapie

Pat. Nr.	Dauer der Ther. Jh; Mo	Körp.größe(cm) zu Be- ginn d. d. AK-Therap. Bestim.	HGH-Behandlung: jeweils Präparat (Ra= HGH-Raben; Rei=HGH-Reisfeld; Ro=HGH-Roos)
			erste Zahl: Dauer (Jahre; Monate) zweite Zahl: Wachstumsrate (cm/Jahr)
1	6;4	86,5	125,1 Ra; Rei; *Ra :1;4 3,38 Ro : 2;2 8,03
2	3;4	130,4	157,0 *Rei: 3;4 8,0
3	2;8	130,3	145,0 *Ro : 2;8 5,74
4	3;3	133,7	154,4 Ra; Rei:0;6 7,1 *Ro : 2;0 7,2
5	3;5	145,8	161,5 Ra :0;3 7,2 *Ro : 3;2 4,6
6	2;8	143,5	155,5 *Ro : 2;8 4,5
7	4;6	113,6	119,5 Ra :1;9 2,7 *Rei: 2;9 0,4
8	4;1	96,5	120,0 *Ro :4;0 5,8 Rei: 0;1
9	0		
11	1;4	106,7	117,0 *Ro : 1;4 8,14
12	5;5	113,0	140,2 Ra; Rei; Ra : 0;2 *Ro : 3;2 4,2
13	2;1	81,0	95,0 *Ro : 2;1 6,72
14		91,8	*Ra :
15	0		
16	3;0	105,1	120,7 *Rei: 3;0 5,2
17	0		
18	3;1	133,8	156,0 *Ro : 3;1 7,2
19	2;1	132,8	140,7 *Rei: 2;1 3,8
20	vgl. Abb. 2.		Ra; *Ro : 2;1 7,56
23	2;2	98,5	112,0 Ro :1;2 9,26 *Ro : 1;0 2,7
24	0		
25	0		
26			*Ra :
27	3;9	126,0	147,0 *Ro : 3;9 5,6
28	3;8	130,0	148,6 Ra :0;8 4,5 *Ro : 3;0 5,2
29	1;9	129,8	137,7 *Ro : 1;9 4,5
30	0;11	74,0	84,0 Ro :0;11 10,9* Ro : 0;4 3,0
31	1;7	74,0	84,5 Ro :1;7 6,63* Ro : 0;4 3,0
34	3;11	119,5	138,5 *Rei:2;4 5,1 Ra :1;0 5,0 Rei: 0;8 3,75
35	3;4	118,0	140,5 *Ro : 3;4 6,75
36	4;4	134,7	147,9 Rei; Ra; Rei:0;4 6,0 *Ro : 2;2 3,2
37			*Ra :
38	2;0	92,5	101,5 *Rei: 2;0 4,5
39	1;10	126,0	138,1 *Ro : 1;10 6,6
40			*Ra :
41	3;9	130,2	150,6 *Ro : 3;9 5,44
42	1;6	136,5	145,0 *Ro : 1;6 5,7
43	4;8	107,0	128,2 Rei:2;1 4,6 *Ro : 2;2 5,35
44	0		
45	1;5	116,0	122,1 *Rei: 1;5 4,3

* : Zeit der AK-Bestimmung im Serum

weitere Einzelheiten : siehe Text

Therapeutisches Vorgehen

Weil das Wachstumshormon nur in begrenzter Menge zur Verfügung steht und die HGH-Behandlung sehr kostspielig ist, muß vor Beginn der Therapie der HGH-Mangel der Patienten, von dem die Indikation zur Wachstumshormonzufuhr abhängt, diagnostisch gesichert werden. Folgende Untersuchungen sind erforderlich:

Prüfung der HGH-Sekretionsreserve der Hypophyse

im Insulin-oder Arginintoleranztest

Stickstoffretentionstest

Suche nach anderen endokrinen Störungen wie der

Schilddrüsenunterfunktion, dem Ausfall der Gonado-

tropine oder einem juvenilen Diabetes mellitus

Röntgenologische Knochenalterbestimmung (Handwurzelknochen)

Schädelaufnahme, Sella turcica

Untersuchung der Familienmitglieder

Als letztes empfiehlt es sich heute, noch vor Therapiebeginn das Serum des Patienten auf Antikörper gegen HGH zu untersuchen.

Wenn die Indikation zur Wachstumshormontherapie feststeht, soll eine dreimonatige probatorische HGH-Behandlung durchgeführt werden, die eine deutliche Zunahme der Wachstumsrate bewirken muß. Die Therapie wird abgebrochen, wenn keine verbesserte Wachstumsleistung nachweisbar ist., anderenfalls wird sie fortgesetzt. Die Patienten bekommen 10 IE pro Woche, auf 2 Injektionen verteilt. Diese Dosis genügt, um ein gutes Körperwachstum zu bewirken, obwohl die Eliminationshalbwertszeit des HGH im Plasma bei 20 bis 30 Minuten liegt. Höhere Dosen würden die Wachstumsquote nicht verbessern können (3).

In dreimonatigen Abständen soll das Plasma auf AK untersucht werden. Im Falle, daß hochtitrige AK ge-

funden werden, muß die Therapie so lange unterbrochen werden, bis der Abfall des AK-Spiegels nachgewiesen ist. Ergibt die AK-Untersuchung einen niedrigen AK-Gehalt, empfiehlt es sich, auf ein anderes dGH-Präparat überzugehen und die AK-Entwicklung durch dreimonatige Kontrolluntersuchungen im Auge zu behalten.

ER G E B N I S S E

Die Ergebnisse der AK-Bestimmung der untersuchten Kinder werden in Prozent der Aktivität des Kontrollserums aus Zürich angegeben, einem Serum mit nachgewiesenem hohem AK-Gehalt. Die Aktivität des Kontrollserums selbst liegt zwischen 6 und 10% der Totalaktivität des radioaktiv markierten HGH der Firma Sorin bzw. bei 2-3% der Totalaktivität bei Verwendung des HGH-Wilhelmi, wie Abb. 1 zeigt.

Bei 7 Patienten lag der AK-Spiegel im Plasma über dem des Kontrollserums, d.h. über 100% (Patienten 15, 17, zeitweise 20, 23, 26, 30, 37). Die Wachstumsrate war bei diesen Patienten nicht anders als ohne HGH-Therapie.

Bei den beiden Kindern 29 und 31 lag der AK-Spiegel über 85%. Er führte auch hier zu einer eingeschränkten Wachstumsleistung (4,5 und 3 cm/Jahr).

Die drei Patienten 3, 28 und 36 zeigten einen leicht erhöhten AK-Gehalt mit einer Aktivität zwischen 10 und 50% des Kontrollserums. Der jährliche Längenzuwachs lag bei 5,7; 5,2 und 3,2 cm.

Bei allen anderen Kindern sowie bei allen untersuchten Eltern konnte keine AK festgestellt werden.

Unter insgesamt 25 Kindern mit totalem HGH-Mangel befanden sich 4 Kinder mit AK über 100% und 3 mit AK über 35%, während 1 von 6 Patienten mit partiellem HGH-Mangel über 100% und 3 zwischen 10 und 30% AK zeigten.

Die einzelnen Ergebnisse aller untersuchten Personen sind in Tabelle 3 aufgeführt.

In die AK-Untersuchung waren Kinder und Eltern aus drei Familien mit gehäuft auftretendem Minder-

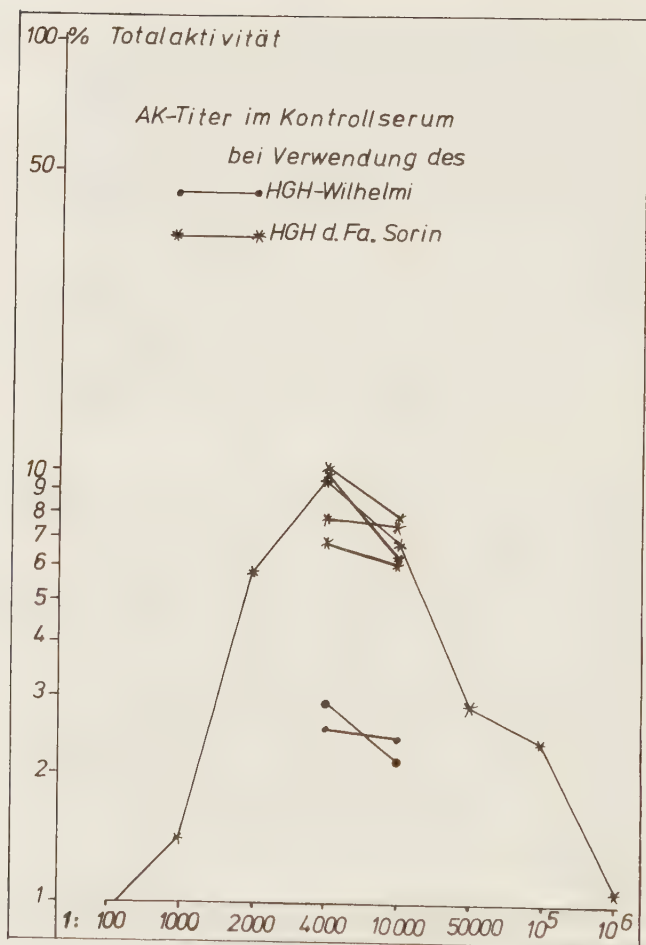


Abb. 1. AK-Titer im Kontrollserum. Maximal werden 6 - 10% (2-3%) des radioaktiv markierten HGH in den Serumverdünnungen von 1:4000 und 1:10000 gebunden. Logarithmische Auftragung!

Tab.3. HGH-Antikörper im Serum. Die einzelnen Ergebnisse der Patienten.

Ergebnisse in Prozent der Aktivität des Serums aus Zürich
(Serum aus Zürich = 100%)

Angaben: Serumverdünnung 1:4000 / 1:10000

Pat. Nr.	1	2	Assay Nr.	4	5	6	7
1		0/0					
2						0/0	
3						29/6	
4			1/1				
5		3/0					
6		0/0					
7		0/0		0/0			
8					0/0		
9						0/0	
10		0/0					
11						0/0	
12			1/4				
13				0/0			
14		0/0					
15							19/150
16			1/0				
17							28/125
18		0/0					
19					0/9		
20	130/130	110/50	53/20	0/0			19/48
21			0/0				
22			0/0				
23			1/1				40/136
24		0/0					
25		0/0					
26							48/458
27						0/0	
28					0/10	0/0	36/20
29					1/1		54/86
30				0/0			70/124
31				0/0			82/57
32			0/0				
33			0/0				0/0
34		0/0					
35			0/0		0/0		
36			0/14		0/0		
37							45/246
38		2/3					
39			5/7				
40		0/0					
41		0/0	0/0				
42					0/0		
43			0/0				
44							0/0
45							0/0

Antikörper über 100% —————

Antikörper zwischen 10 und 100% - - - - -

wuchs einbezogen. Die Entwicklung von AK unter der Therapie mit Wachstumshormon von Patientin 20 ist in Abbildung 2, die der Zwillingsschwestern 30 und 31 in Abbildung 3 dargestellt und ausführlich besprochen.

In der Familie des Patienten 8 mit absolutem HGH-Mangel, der über 4 Jahre mit HGH-Roos behandelt worden war und in dieser Zeit keine AK entwickelt hatte, fielen die AK-Untersuchungen gleichfalls negativ aus. Es waren die Mutter und der Bruder (Patient 9), der keinen HGH-Mangel hatte, aber minderwüchsig war, auf AK untersucht worden.

Zum Krankengut gehören die beiden Patienten 6 und 15, die vor 2 bis 3 Jahren an ihrem Kraniopharyngeom operiert worden waren. Patient 6 war daraufhin über 2;8 Jahre mit HGH-Roos behandelt worden, was jedoch nicht zu einer Steigerung der Wachstumsrate - sie liegt bei 4,5 cm/Jahr - führte. In seinem Plasma wurden keine AK gefunden. Patient 15 wurde nach seiner Operation mit Hydrocortison, Schilddrüsenpräparaten und daneben mit Tegretal, jedoch nicht mit Wachstumshormon behandelt. Die Wachstumsrate des 10-jährigen Jungen liegt mit 5,2 cm/Jahr im Normbereich. Im Plasma dieses Patienten wurde ein AK-Gehalt über 100% gemessen!

Bei einem weiteren Patienten wurden gleichfalls Autoantikörper gegen HGH, ebenfalls über 100%, gefunden. Patient 17 hatte einen partiellen Wachstumshormonmangel, seine Wachstumsrate von 5,2 cm/Jahr liegt im Normbereich. Er befand sich mit 13 Jahren in der Pubertät. Auch Patient 17 hatte niemals HGH-Injektionen erhalten.

Patient 7 mit der Diagnose Leprechaunismus zeigte keine AK-Bildung. Der Wachstumsrate nach sprach

er gut auf die HGH-Therapie an.

Das Serum der Patienten 25, 36 und 39 war aus der Universitätskinderklinik Münster zur AK-Bestimmung zugeschickt worden. Die Körpergröße der drei Kinder lag weit unter der 3. Percentile. Die Ursache des Minderwuchses war uns nicht mitgeteilt worden. Die Kinder waren über längere Zeit mit Sereno, einem ähnlich dem Raben-Verfahren hergestellten HGH-Präparat, behandelt worden. Bei den Patienten 25 und 36 war seit einiger Zeit eine Resistenz gegen die HGH-Behandlung zu beobachten. Bei einer Serumverdünnung von 1:10000 lag der AK-Gehalt von Patientin 25 bei 458% und der von Patient 36 bei 246%, während bei Patient 39 überhaupt keine AK zu messen waren. Die HGH-Therapie der beiden erstgenannten Patienten mußte unterbrochen werden.

Bei den Patienten 24, 25 und 44 mit rheumatoider Arthritis oder M. Still fiel die AK-Untersuchung negativ aus. Die Kinder hatten eine ausreichende HGH-Sekretion im Insulintoleranztest, - die basale HGH-Sekretion über 24 Stunden lag bei den Patienten 25 und 44 im Normbereich, bei Patient 24 war sie subnormal. Die Wachstumsrate der drei Kinder war minimal. Sie waren nicht mit HGH behandelt worden. Eine Autoantikörperbildung gegen das eigene Wachstumshormon als Ursache ihres Wachstumsrückstandes konnte durch die AK-Bestimmung ausgeschlossen werden.

Zu Abbildung 2, Patientin 20

Bei Betrachtung der Wachstumskurve fällt der progrediente Wachstumsrückstand von Patientin 20 in den ersten Lebensjahren auf. Im Alter von 5;4 Jahren wurde sie zum ersten Mal mit Wachstumshormon, HGH-Raben, behandelt, zuerst drei Monate lang, dann, nach einer

viertel-jährigen Pause insgesamt 6 Monate lang, bis die Wachstumsgeschwindigkeit, die anfangs durch die Therapie sehr verbessert war, wieder auf Werte wie vor der HGH-Zufuhr abgefallen war. Die Ursache dieser Resistenz gegen die HGH-Therapie war die Entwicklung hochtitriger Antikörper, die damals mittels der Hämagglutinationsmethode nachgewiesen wurden. Mit der eigenen Methode der AK-Bestimmung konnte noch 4 1/2 Jahre später ein hoher AK-Spiegel gemessen werden, der ein halbes Jahr später auf Werte unter 100% abgefallen war und schließlich nicht mehr nachweisbar war. Nun ist Patientin 20 bereits 2 Jahre lang mit sehr gutem Erfolg mit HGH-Roos behandelt. Die Wachstumsrate stieg auf 7,56 cm/Jahr. Die AK gegen HGH sind wieder auf ca 50% angestiegen, was jedoch keinen Einfluß auf die gute Wachstumsgeschwindigkeit hat und auch nicht den Wechsel auf ein anderes HGH-Präparat erforderlich macht. Von einem Booster-Effekt durch die erneute Zufuhr von Wachstumshormon, d.h. einem früheren und steileren Anstieg der AK gegen HGH, kann im eigentlichen Sinne nicht gesprochen werden. Es ist möglich, daß HGH-Raben bei der Patientin stärker antigen wirksam ist als das jetzt applizierte HGH-Roos.

Bei den Eltern des Mädchens wurden keine AK gefunden. Beide stammen aus Familien mit gehäuft auftretendem Minderwuchs, doch nur bei der Mutter waren hormonelle Störungen nachweisbar (partielle Hypophyseninsuffizienz).(6).

Zu Abbildung 3, Patientinnen 30 u.31

Die Wachstumshormonbehandlung der beiden Zwillingsschwestern wurde erst im Alter von 6;1 bzw. 5;9 Jahren begonnen. Die Mädchen waren 74 cm groß, was

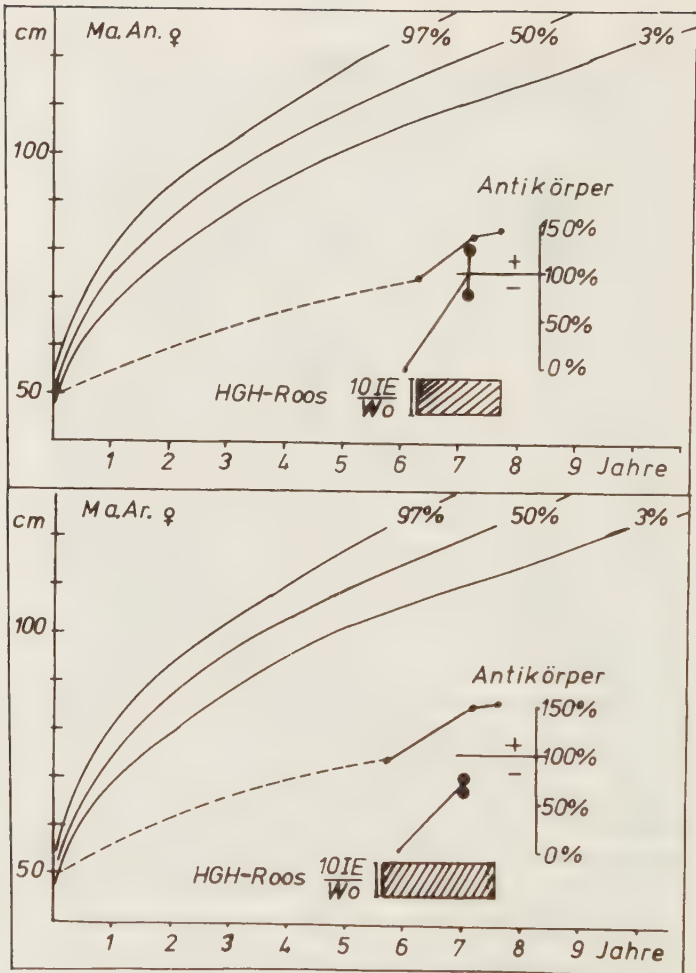


Abb. 3. Wachstumsdiagramme der beiden Zwillingsschwestern 30 und 31, geb. 9.12.1967. Erbl. GHG-Mangel. Näheres S 27

der Größe eines einjährigen Kindes entsprach. Unter der Behandlung mit HGH-Roos (2 Injektionen à 5 IE pro Woche) zeigte sich bei beiden Mädchen ein ausgesprochen gutes Wachstum, ein typisches Aufholwachstum, mit Wachstumsraten von 10,9 (Pat. 30) und 6,6 (Pat. 31) cm/Jahr. Insgesamt war Patientin 30 11 Monate lang, Patientin 31 19 Monate lang mit HGH behandelt worden, als die AK-Untersuchung einen hohen AK-Spiegel anzeigte. Die Kinder hatten die Körpergröße von 84,5 und 84 cm erreicht und waren ab da nur mehr sehr schlecht gewachsen (ca 3 cm/Jahr). Es mutet etwas paradox an, daß Patientin 30 mit der kürzeren Behandlungszeit einen höheren AK-Spiegel im Plasma zeigte als ihre Zwillingschwester - (70/124 und 85/57 entsprechend den Serumverdünnungen 1:4000/1:10000).

Die Eltern der Mädchen waren normal groß, hatten eine normale HGH-Sekretion und keine Antikörper im Plasma.

Die einzelnen HGH-Präparationen

Im folgenden soll untersucht werden, welchen Einfluß die einzelnen HGH-Präparationen auf das Wachstum und die AK-Bildung haben. Mittels der diskontinuierlichen Polyacrylamidgelelektrophorese wurden 4 verschiedene HGH-Präparate auf ihre Homogenität hin geprüft:

In Säule 1+2: HGH Wilhelmi von Dr.v.Werder (HGH-HS 1394, 2IU hGH, 6IU Prolaktin, biologische Aktivität/mg)

in Säule 3+4: HGH-Raben

in Säule 5+6: HGH-Reisfeld (Sotropin H, Arzneimittelwerk Dresden)

in Säule 7+8: HGH-Roos (Crescormon, Dt.Kabi, GmbH)

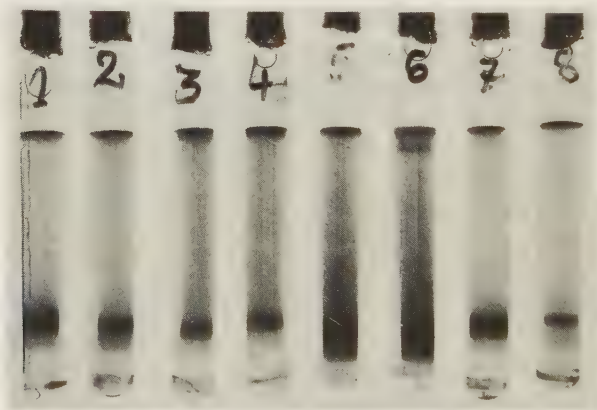


Abb.4. Diskontinuierliche Polyacrylamid-Gel-Elektrophorese. Verschiedene HGH-Präparationen.

In den Säulen 5 u.6 mit HGH-Reisfeld ist das Band breit und verwaschen, in der gesamten Säule zeigt sich eine stärkere Trübung. In den Röhrcchen 7 und 8

liegen sehr scharf begrenzte, schmale Banden vor, was für die Homogenität des Präparates, HGH-Roos, spricht. Die beiden anderen HGH-Präparate in den Röhrchen 1 bis 4 haben gleichfalls kein breites Band, aber eine Anfärbung der Gelsäulen, die, im Vergleich zum HGH-Reisfeld, nicht so intensiv ist. Der Reinheitsgrad der drei therapeutisch verwendeten HGH-Präparate nimmt in der Reihenfolge HGH-Roos HGH-Raben HGH-Reisfeld deutlich ab.

Von den 34 Patienten, die mit HGH behandelt wurden, erhielten 22 Kinder HGH-Roos, 7 HGH-Reisfeld und 5 HGH-Raben. Bei insgesamt 12 Patienten waren AK gefunden worden, wobei es sich in 2 Fällen um die Bildung von Autoantikörpern handelte, da die Kinder nicht mit Wachstumshormon behandelt waren. Ansonsten hatten 8 der 22 Patienten unter HGH-Roos, keines der 7 Kinder unter HGH-Reisfeld und 2 der 5 Kinder unter HGH-Raben Antikörper gegen HGH entwickelt. Der Reinheitsgrad der HGH-Präparate im elektrophoretischen Bild geht demnach nicht parallel zur Antigenität, gemessen an der Wirkung auf das menschliche Immunsystem.

Gerade umgekehrt verhält es sich mit der Wirkung der einzelnen HGH-Präparate auf das Körperwachstum: mit HGH-Roos konnte eine durchschnittliche Wachstumsrate von 6,44 cm/Jahr erzielt werden. Mit großem Abstand folgen die anderen Präparate, HGH-Reisfeld mit einer durchschnittlichen Wachstumsquote von 4,62 cm/Jahr und HGH-Raben mit 4,55 cm/Jahr. Der Reinheitsgrad der HGH-Präparate im elektrophoretischen Bild ist somit ein direktes Maß für ihre biologische Aktivität! In Abbildung 5 ist die Wachstumsrate der Patienten dargestellt, wie sie zur Zeit der AK-Bestimmung oder in einem früheren Behandlungszeitraum

unter einem anderen Wachstumshormonpräparat vorhanden war (deshalb mehr Punkte als der Patientenzahl entspricht).

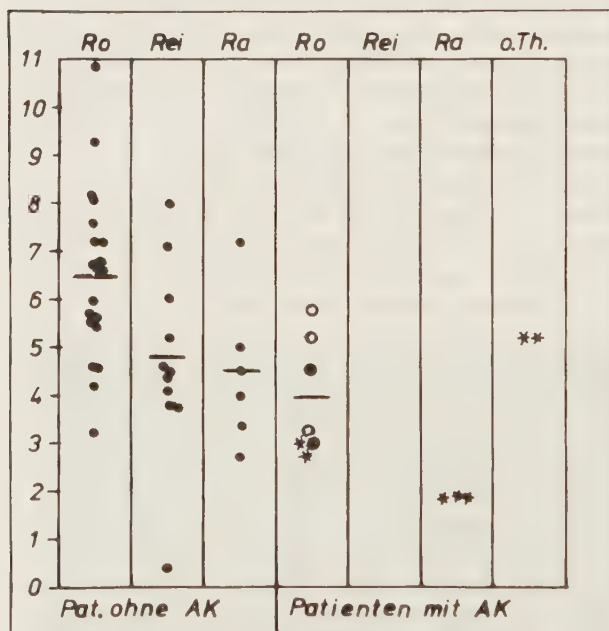


Abb.5. Wachstumsrate und HGH-Antikörper.

Ro = HGH-Roos

+ = >100%

Rei = HGH-Reisfeld

● = 50 - 100 %

Ra = HGH-Raben

○ = 10 - 50 %

a.Th. = ohne Therapie

Die Wachstumsrate ist unter Behandlung mit HGH-Roos am größten. Bei Entwicklung von AK ist sie deutlich erniedrigt.

D I S K U S S I O N

Ursachen des hypophysären Minderwuchses

Hypophysärer Zwergwuchs ist durch den bereits in den ersten Lebensjahren beginnenden progredienten Wachstumsrückstand bei normalen Körperproportionen gekennzeichnet. Charakteristisch sind ferner das Puppengesicht, die Akromikrie, die leichte Stammfettsucht und die altersentsprechende Intelligenzentwicklung. Die Ursachen des Hyposomatotropismus sind bei vielen Kindern unbekannt. In einigen Fällen sind anamnestisch Geburtstraumen (operative Entbindungen, Beckenendlagen, Nabelschnurumschlingung, Asphyxie) oder andere Traumen in der Kindheit zu erfahren. Bei anderen Kindern ist die Hypophyseninsuffizienz mit einer Entwicklungsstörung des Hypothalamus - Fehlen des growth hormone releasing factors - oder der Hypophyse zu erklären, oder sie ist durch einen Tumor, im Kindesalter in erster Linie das Kraniopharyngeom, bedingt. Neben dem hier besonders interessierenden Wachstumshormon fallen bei einem großen Teil der Kinder auch andere wichtige Hypophysenhormone wie das TSH, das ACTH oder die Gonadotropine aus. Bei einem der untersuchten Kinder war die Diagnose Leprechaunismus gestellt worden, einem sehr seltenen Krankheitsbild, das durch multiple endokrine Störungen und körperliche Mißbildungen gekennzeichnet ist (10).

Von den oben genannten Formen des Wachstumshormonmangels zu trennen ist der familiär gehäuft auftretende isolierte Wachstumshormonmangel, dem ein autosomal rezessiver Erbgang zugrunde liegt (6, 12, 18, 19, 30, 53). Der Minderwuchs der Patientinnen 20 und 30 u.31 dürfte hierunter einzuordnen sein.

Schließlich sind einige Kinder zu erwähnen, die sich phänotypisch nicht von Patienten mit echtem hypophysärem Zwergwuchs unterscheiden, die jedoch keinen Wachstumshormonmangel haben. Die Bildung eines biologisch inaktiven HGH (26), die Entwicklung von Autoantikörpern gegen das eigene Wachstumshormon (9) oder das Fehlen des Somatomedins, des vom HGH abhängigen und für dessen Wirkungen unerlässlichen Sulfation Factors (1), kommen als Ursachen solcher Minderwuchsformen in Frage.

Nur etwa 5% aller Minderwüchsigen haben einen echten Wachstumshormonmangel und nur bei diesen Kindern verspricht eine HGH-Therapie Erfolg. Durch die Untersuchung der Sekretionsreserve des HGH in einem Stimulationstest können die Kinder mit absolutem HGH-Mangel erkannt werden. Eine andere, wesentlich aufwendigere Methode zur Prüfung der Hypophysenfunktion und der individuellen anabolen Wirkung des HGH besteht in der Messung der Stickstoffretention unter exogener Zufuhr von Wachstumshormon.

Ergeben die Voruntersuchungen eine berechtigte Hoffnung, daß die Zufuhr von HGH eine wesentliche Verbesserung der Wachstumsrate bewirken würde, ist eine dreimonatige probatorische Behandlung mit HGH zu empfehlen (3). Die exakte Messung der Größenzunahme zeigt Erfolg oder Mißerfolg der Therapie an. Gleichzeitig ist die Untersuchung des Patientenserums nach Antikörpern angeraten. Sie gibt an, ob eine Fortführung der Therapie mit dem gleichen oder einem anderen Wachstumshormonpräparat oder ob eine Unterbrechung der Behandlung im Falle der Entwicklung hochtitriger Antikörper indiziert ist.

Methoden der AK-Bestimmung

Der Nachweis von HGH-Antikörpern kann nach zweierlei Methoden erbracht werden: mittels einer Häm-agglutinationstechnik, von Conti (9), Szeke (50) und Prader (32) früher hauptsächlich angewandt, oder durch die radioimmunologische Bestimmung, wobei die zu untersuchenden AK radioaktiv markiertes HGH binden (11, 31, 42, 55).

Die eigene Antikörperbestimmung richtet sich in etwa nach den Angaben von Waldhäusl u. Rath (55). Anders als bei diesen beschrieben sind

1. die Mengenverhältnisse der Reagenzien
2. die Herkunft der Reagenzien
3. die Inkubationszeiten
4. die Methode der Trennung von gebundenem und freiem markierten HGH (bei Waldhäusl u. Rath durch Zentrifugieren, in der eigenen Arbeit durch Filtration)
5. Waldhäusl u. Rath stellten eine Plasmaverdünnungsreihe auf und definierten den AK-Titer als die maximale Plasmaverdünnung, die 50% des markierten HGH bindet. In der eigenen Arbeit wurde zuletzt nur mit 2 Serumverdünnungen gearbeitet und der AK-Gehalt des Patientenserums in Prozent des AK-Gehalts eines Kontrollserums angegeben.

Der Vorteil der eigenen AK-Untersuchung gegenüber anderen Methoden besteht darin, daß die Materialien in gebrauchsfertigem Zustand geliefert werden (z.B. von der Fa. Sorin/Italien oder Fa. Behring). Die Inkubationszeit während der AK-Untersuchung lag zwischen 2 Tagen (bei 37°C) und 5 Tagen (bei 4°C). Der gesamte Arbeitsaufwand ist sehr gering.

Das Kontrollserum war aus Zürich zugeschickt worden und stammt von einem Kind, welches nachweislich

sehr hohe AK-Titer hatte und gegen eine Wachstumshormonbehandlung resistent war. Illig (18) spricht von Antikörpertypus A bei 6 von ihr untersuchten Kindern mit erblichem isolierten HGH-Mangel und genetischer Prädisposition zu starker AK-Bildung unter HGH-Behandlung. Sie bezeichnet weiterhin AK-Titer als hoch, wenn die Plasmaverdünnung, bei der 50% des markierten HGH gebunden werden, bei 1:5000 oder darüber liegt. Demnach müßte das Züricher Serum in den eigenen AK-Bestimmungen bei der Plasmaverdünnung von 1:4000 eine Aktivität von über 50% der Totalaktivität zeigen. Tatsächlich aber lag die gemessene Aktivität im Kontrollserum nur bei 6 - 10% der Totalaktivität, wenn das markierte HGH der Firma Sorin verwendet wurde, und bei 2-3% unter Benutzung des HGH-Wilhelmi als tracer-HGH. Dieser Unterschied könnte mit einer geringeren Affinität der AK zum markierten HGH in der eigenen Untersuchungsmethode erklärt werden. Wenn man davon ausgeht, daß nur hohe AK-Titer das Wachstum hemmen, niedrige dagegen nicht (18, 3), und alle Patienten, deren AK-Konzentration genau so hoch oder über der des Züricher Serums war, nicht gewachsen waren (abgesehen von den beiden Patienten mit Auto-AK-Bildung), kann man auf eine hinreichende Genauigkeit und Aussagekraft der eigenen Methode schließen.

Die Anti-HGH-Antikörper gehören in die Gruppe der 7-S Globuline, die im Serum 75% der Immunglobuline ausmachen und auch im Gewebe eine hohe Konzentration aufweisen. Den IgG Globulinen kommt eine besondere Wirkung bei der Abwehr körperfremder Toxine zu. Der Zeitabstand zwischen Erstkontakt mit dem Fremdstoff und dem Auftreten von AK beträgt im Falle des Wachstumshormons mindestens 4 Wochen.

Viele Autoren bemerken das Auftreten der AK innerhalb der ersten 3 Behandlungsmonate (17, 32, 49), oder auch erst Jahre nach Beginn der HGH-Zufuhr (9, 39, 42, 50).

Die einzelnen HGH-Präparate

Wachstumshormon kann nur durch Extraktion aus menschlichen Leichenhypophysen gewonnen werden, wofür es eine Menge Darstellungsverfahren gibt. Obwohl das somatotrope Hormon ein sehr stabiles Polypeptid ist, kann nicht ausgeschlossen werden, daß das Protein durch das Isolierungsverfahren Strukturveränderungen erfährt, und das geschädigte Wachstumshormon, wie Fremdeiweiß, die Bildung von AK induziert.

In der Literatur wird am häufigsten von HGH-Raben (35), der ersten therapeutisch eingesetzten HGH-Präparation überhaupt, berichtet, daß es in erhöhtem Ausmaß zu AK-Bildung führen würde. Szeky (50), Prader (32), Stubbe (49) und Illig (17, 18) beschreiben Fälle von AK-Bildung unter HGH-Raben, Frasier u. Smith (11) berichten 1966 über die AK-Bildung bei 1 von 3 Kindern unter HGH-Li-Behandlung und Rhode u. Mitarb. (38) beobachteten 1974 das Auftreten von AK bei 11 von 60 mit HGH-Reisfeld behandelten Kindern.

Die eigenen untersuchten Kinder wurden wie folgt, behandelt: von insgesamt 34 Kindern mit Wachstumshormonbehandlung erhielten 22 Patienten HGH-Roos, 7 HGH-Reisfeld und 5 HGH-Raben. 2 der Kinder mit HGH-Raben und 3 der Kinder mit HGH-Roos hatten einen hohen AK-Spiegel (über 100% der Aktivität des Kontrollserums) und 5 Patienten mit HGH-Roos hatten AK in geringerem Ausmaß (zwischen 10 und 100 %) entwickelt.

Die Ursachen der AK-Entwicklung gegen homologes

Wachstumshormon mögen vielfältig sein, genetische Gesichtspunkte sollen später besprochen werden. Um zu erfahren, ob Verunreinigungen oder Strukturveränderungen bei den in der Kinderklinik angewandten Präparaten eine ausschlaggebende Rolle spielen, wurde die Diskelektrophorese ausgeführt. Dem Anschein nach zeigt HGH-Reisfeld die stärkste Dissoziation der Banden, gefolgt von HGH-Raben. Das schmalste Band wurde in der Säule mit HGH-Roos gefunden. Man kann daraus schließen, daß HGH-Roos einen sehr homogenen Aufbau hat, während die Präparationen nach Reisfeld und Raben heterogen zusammengesetzt sind. In umgekehrter Reihenfolge aber verhält sich die Antigenität der Präparationen, wie aus der Häufigkeit der AK-Bildung bei der Behandlung mit dem jeweiligen Präparat hervorgeht.

Der Reinheitsgrad im elektrophoretischen Bild läßt eher Rückschlüsse auf die biologische Aktivität als auf die Antigenität der jeweiligen HGH-Präparate zu. So waren die Patienten unter HGH-Roos mit 6,47 cm/Jahr im Durchschnitt wesentlich besser gewachsen als unter HGH-Reisfeld mit 4,62 cm/Jahr oder HGH-Raben mit 4,55 cm/Jahr. Diese Befunde decken sich teilweise mit den Untersuchungsergebnissen von Butenandt u. Mitarb. (5), die die biologische Aktivität der drei oben genannten HGH-Präparationen anhand von Stickstoffretentionstests bei Kindern mit hypophysärem Zwergwuchs verglichen. Die stärkste Wirkung auf die Stickstoffretention hatte HGH-Roos mit durchschnittlich 33,2%, gefolgt von HGH-Raben mit 30,9% und HGH-Reisfeld mit nur 19,7%.

Holmström und Fhølenhag (14) verglichen 12 verschiedene klinisch verwendete HGH-Präparationen, darunter die drei oben genannten, mittels einer Se-

phadex Gel Filtration. Es stellte sich heraus, daß HGH-Roos, wie die anderen aus gefrorenen Hypophysen extrahierten Wachstumshormonpräparate, hauptsächlich in monomerer Form vorlag, während die aus azeton-getrockneten Hypophysen hergestellten Präparate wie HGI-Reisfeld und HGH-Roos Wachstumshormon zum Teil in aggregierter Form enthielten. Sie stellten ferner fest, daß der HGH-Gehalt in der Präparation nach Reisfeld unter der angegebenen Menge lag und daß dieses Präparat einen hohen Gehalt an FSH, LH und TSH aufwies.

Die Entwicklung der AK, durch die einzelnen HGH-Präparate bedingt, ist meist nicht sehr ausgeprägt und behindert dann im allgemeinen nicht das Körperwachstum (32). Häufig verschwinden die AK nach dem Wechsel auf ein anderes HGH-Präparat. Anders zu beurteilen ist das Auftreten von AK bei Kindern mit erblichem pränatalen HGH-Mangel.

Über den erblichen Hypopituitarismus liegen viele Publikationen vor (2, 6, 12, 18, 20, 26, 28, 30, 53). Entsprechend der Vielfalt der klinischen Erscheinungsbilder bei verschiedenen Familien mit hypophysärem Zwergwuchs werden unterschiedliche Gendefekte angenommen (30).

Zum eigenen Patientengut zählen 4 Kinder mit familiärem Zwergwuchs und nachgewiesenem HGH-Mangel. Butenandt u. Knorr (6) beschrieben die Familie von Patientin 20. Während der Vater, der aus einer Familie mit Minderwuchs stammt, keine hormonellen Störungen hatte, konnten bei der Mutter des Mädchens partielle Hypophysenfunktionsstörungen nachgewiesen werden. Patientin 20 hatte innerhalb des ersten Jahres der Behandlung mit HGH-Raben nach anfänglich sehr guter Wachstumsrate eine Resistenz gegen das

zugeführte HGH entwickelt. Damals wurden hohe AK-Titer bestimmt, die noch nach 5 Jahren im Plasma nachweisbar waren. Die damalige Therapie mit Wachstumshormon mußte während dieser Zeit abgesetzt werden. Erst nach dem Abfall des AK-Titers, insgesamt 6 Jahre nach der Erstbehandlung mit HGH-Raben, konnte Wachstumshormon wieder gegeben werden. Jetzt ist Patientin 20 bereits 2 Jahre mit HGH-Roos behandelt, ohne daß es zu einer übermäßig starken AK-Bildung gekommen wäre.

Bei den beiden Zwillingsgeschwestern 30 u. 31 wurde gleichfalls eine AK-Entwicklung unter HGH-Roos beobachtet. Es mutet etwas paradox an, daß Patientin 31 nach nur 11-monatiger HGH-Therapie nun einen höheren AK-Spiegel hat als ihre Schwester nach einer 19-monatigen Behandlung mit der gleichen wöchentlichen Dosis. Die Wachstumsrate war bei Patientin 31 mit anfänglich 10,9 cm/Jahr wesentlich besser als die der Schwester mit 6,6 cm/Jahr. Seit der Entwicklung der AK gegen HGH ging die Wachstumsrate der Kinder auf ca 3 cm/Jahr zurück.

Ein absoluter Wachstumshormonmangel war nur bei einem der beiden Brüder, bei Patient 8, festzustellen, während der andere, Patient 9, minderwüchsig war, aber eine normale HGH-Sekretion im Insulintoleranztest zeigte. Bei Patient 8 waren auch nach 4-jähriger Therapie mit HGH-Roos keine AK aufgetreten.

Mutter und Bruder von Patient 8 sowie die Eltern der Patientinnen 20, 30 und 31 wurden gleichfalls auf AK untersucht, um die Frage zu klären, ob es eine Erbanlage zur AK-Bildung gibt und ob hierin möglicherweise ein Grund für das Vorkommen von Zwergwuchs liegt. Das Fehlen der AK bei Eltern und

Bruder sowie bei den Patienten selbst, als sie noch nicht mit Wachstumshormon behandelt waren, läßt eine Schlußfolgerung in dieser Richtung nicht zu. Eher scheint es, daß die Patientinnen 20, 30 und 31 zu der Gruppe von Kindern mit pränatalem HGH-Mangel gehören. Solche Kinder entwickeln, da sie keine natürliche Immuntoleranz gegen HGH haben, sehr bald unter HGH-Therapie hochtitrige, lange persistierende AK, die dann die biologischen Wirkungen des zugeführten HGH neutralisieren. Ob die eigenen Patienten zu der von Illig und Mitarb. (19) beschriebenen Form des familiären HGH-Mangels vom A-Typus zu zählen sind, muß offen bleiben. A-Typus bedeutet AK-Typus A; gemeint ist die genetische Prädisposition zu starker AK-Entwicklung unter HGH-Therapie, die Illig u. Mitarb. bei 6 zum Teil miteinander verwandten Kindern beobachtete. Die 6 Kinder hatten gleichzeitig einen recht charakteristischen Gesichtsausdruck durch ihre stark vorgewölbte Stirn und die tief eingesunkene Nasenwurzel.

Interessant ist das Ergebnis der AK-Untersuchung der beiden Patienten 15 und 17. Obwohl die Kinder nie mit Wachstumshormon behandelt worden waren, konnten AK gegen HGH festgestellt werden. Über ähnliche Beobachtungen berichteten 1962 Conti u. Mitarb. (9), die mittels der Hämagglutinationsmethode Autoantikörper bei 3 Zwergen, die nie mit HGH behandelt waren, fanden. Die Ursachen, die zur Durchbrechung der immunologischen Toleranz gegenüber körpereigenen Stoffen führen, sind uneinheitlich. Verschiedene Möglichkeiten werden diskutiert (58) wie die Veränderungen der körpereigenen Stoffe durch Bakterien, Viren, Strahlen, chronischen Entzündungen und Tumoren. Patient 15 war 3 Jahre vor der AK-Untersuchung

wegen eines Kraniopharyngeoms operiert worden. Möglicherweise hatte der Tumor die antigenen Eigenschaften der Hypophyse oder ihrer Hormone verändert. In der Literatur werden Fälle von AK-Entwicklung bei Kraniopharyngeom-Patienten sehr häufig beschrieben, allerdings wurden die Kinder erst nach Beginn der Behandlung mit HGH auf AK untersucht, dann, wenn sich eine Therapieresistenz zeigte (11, 18, 32, 49). Der andere der beiden Patienten mit Autoantikörperbildung hatte einen partiellen HGH-Mangel. Beide Patienten waren bisher leider - trotz wiederholter Aufforderungen - nicht mehr in die Sprechstunde zu weiteren Untersuchungen gekommen.

Bei einigen Patienten verschlechterte sich ab dem Zeitpunkt des Auftretens von HGH-Antikörpern die anfänglich gute Wachstumsrate unter HGH-Therapie (z.B. Patienten 21, 30 und 31), bei anderen Kindern kann eine individuelle Ansprechbarkeit der einzelnen HGH-Präparate angenommen werden, wie das Beispiel der Patienten 1, 5, 34 und 43 zeigt. Patient 1 war unter HGH-Raben um 3,38 cm/Jahr, unter HGH-Roos dagegen um 8,03 cm/Jahr gewachsen, ohne daß vorher AK nachweisbar gewesen wären. Schließlich gibt es Patienten, die nie auf eine Wachstumshormonbehandlung angesprochen hatten, obwohl ein absoluter HGH-Mangel diagnostiziert war und obwohl die Kinder keine AK hatten. Zu nennen sind die Patienten 7, 12 und 19. Ebenso unklar sind die Ursachen des Wachstumsrückstandes bei den drei Kindern mit rheumatoider Arthritis oder M.Still (Patienten 24, 25 und 44). Die drei Patienten hatten eine ausreichende Wachstumshormonsekretion, sei es im Insulintoleranztest oder im spontan vorhandenen HGH-Gehalt im Plasma über 24 Stunden (7). Die AK-Unter-

suchung war negativ ausgefallen. Ein wachstums-
hemmender Einfluß seitens der Corticosteroidthera-
pie könnte nur bei Patientin 25 angenommen werden,
die etwa 2 mg Prednison /kg Woche und zusätzlich
ACTH im Rahmen der antirheumatischen Behandlung
einnehmen mußte. Bei den beiden anderen Patienten
dürfte die Corticosteroidtherapie zu gering dosiert
sein, als daß sie zu Wachstumsretardierung führen
könnte (41). Es ist möglich, daß diese Kinder wie
auch die Patienten 7, 12 und 19, einen Somatomedin-
mangel haben. Somatomedin(1) wird in Abhängigkeit
vom HGH in der Leber gebildet und ist für die Stoff-
wechselwirkungen des HGH unerlässlich. Die einzig
kausale, wachstumsfördernde Therapie bei Patienten
mit Somatomedinmangel wäre die Zufuhr dieses Stoffes.

ZUSAMMENFASSUNG

1. Die Antikörper (AK)-Untersuchung erstreckte sich auf 40 minderwüchsige Kinder. 29 Patienten hatten einen absoluten HGH (human growth hormone) - Mangel, teil mit, teils ohne anamnestische Befunde. Zu ihnen zählten 2 Patienten mit operiertem Kraniaopharyngeom und 4 Patienten mit erblichem HGH-Mangel. Die Eltern dieser 4 Kinder sowie 6 Patienten mit partiellem HGH-Mangel, 1 Patient mit Leprauchanismus und 3 Kinder mit rheumatoider Arthritis bzw. M.Still wurden ebenfalls auf AK untersucht.
2. Insgesamt 34 Patienten wurden mit Wachstumshormon behandelt. 22 Kinder erhielten HGH-Roos, 7 Kinder dGH-Reisfeld und 5 Patienten HGH-Raben.
3. Die AK wurden radioimmunologisch nach einer neuen, vereinfachten Doppelantikörpermethode bestimmt. Die Trennung von freiem und gebundenem HGH erfolgte durch Filtration. Das Patientenserum wurde nur in 2 Verdünnungen (1:4000 und 1:10000) eingesetzt. Zur Kontrolle wurde ein Serum mit hohem AK-Gehalt (Typus-A-Serum (18)) verwendet. Die Aktivität des Kontrollserums lag zwischen 6 und 10 % der Totalaktivität bei Verwendung des markierten HGH der Firma Sorin und bei 2 - 3 % unter Benutzung des HGH-Wilhelmi. Der AK-Gehalt im Patientenserum wurde in Prozent der Aktivität des Kontrollserums angegeben.
4. Bei 7 Kindern lag der AK-Spiegel über 100%, bei 2 Kindern zwischen 85 und 100% und bei 3 Kindern zwischen 10 und 50%.
Patientin 20 mit familiärem Hypopituitarismus hatte nach 9-monatiger Behandlung mit HGH-Raben

hohe AK-Titer entwickelt, die sich erst nach 5 Jahren zurückbildeten. Nun ist sie 2 Jahre lang mit HGH-Roos mit sehr gutem Erfolg behandelt, ohne daß es zu einer übermäßig starken AK-Bildung gekommen wäre.

Die beiden Zwillingsschwestern 30 und 31 mit familiärem Zwergwuchs wurden 19 und 11 Monate lang mit HGH-Roos behandelt, wobei die Wachstumsrate der Mädchen auf 6,6 und 10,9 cm/Jahr anstieg, bis hohe AK-Spiegel nachweisbar waren, die zu einer Resistenz gegen die HGH-Therapie führten. Bei 2 Patienten, die nie mit HGH behandelt waren, wurden hohe AK-Spiegel gefunden. Einer der beiden war 2 Jahre vor der AK-Bestimmung an einem Kraniopharyngeom operiert worden, der andere hatte einen partiellen HGH-Mangel. Beide waren trotz der HGH-Antikörper weiter gewachsen.

5. Die drei klinisch verwendeten HGH-Präparationen wurden mittels einer Diskelektrophorese untersucht. Es zeigte sich, daß HGH-Roos das schmalste und schärfste Band hatte, während bei HGH-Raben und besonders bei HGH-Reisfeld stärkere Trübungen in der ganzen Säule aufzeigten und ein breites und verwaschenes Band hatten. Der Reinheitsgrad der verschiedenen HGH-Präparationen scheint einen starken Einfluß auf die Wachstumsrate, nicht jedoch auf die AK-Bildung zu haben. HGH-Roos bewirkte eine durchschnittliche Wachstumsrate von 6,44, HGH-Reisfeld von 4,62 und HGH-Raben von 4,55 cm/Jahr. Die Trübung in den einzelnen Säulen ist dagegen kein Indikator für die Wirkung der HGH-Präparate auf das Immunsystem: keiner von 7 mit HGH-Reisfeld, 2 der 5 mit HGH-Raben und 8 der 22 mit HGH-Roos behandelten Patienten hatten AK entwickelt.

L I T E R A T U R

1. Advances in Human Growth Hormone Research. A Symposium, Baltimore, Md. Okt. 9 - 12. 1973
2. Bierich, J.R.: On genetically determined pituitary dwarfism. Acta endocrin. (Kbh.) Suppl. 89, 27 (1964)
3. Butenandt, O.: Humanes Wachstumshormon. Seine Wirkung auf Wachstum und Stoffwechsel minderwüchsiger Kinder. Ferdinand Enke Verlag Stuttgart, 1974
4. Butenandt, O.: Partieller Wachstumshormonmangel: endogener Wachstumshormongehalt und Wirkung von exogen zugeführtem humanem Wachstumshormon. Klin.Wschr., 51, 266 (1973)
5. Butenandt, O., Bidlingmaier, F., Knorr, D.: Effect of different human growth hormone preparations on nitrogen retention in hypopituitary children. Acta Paed.Scand. 63, 549-594, (1974)
6. Butenandt, O., Knorr, D.: Familiärer Hypopituitarismus. Mschr.Kinderhk. 118, 470 (1970)
7. Chalkley, S.R., Tanner, J.M.: Incidence and effects on growth of antibodies to human growth hormone. Arch.Dis.Childh. 46, 160 (1971)
8. Clados, A.: Bestimmung des Wachstumshormongehalts im Plasma über 24 Stunden und Insulintoleranztest bei 19 minderwüchsigen Kindern mit rheumatoider Arthritis und M.Still.Inaug.Diss. München, 1975
9. Conti, C., Sereno, L., Luchetti, L., Recchia, O., Isidori, A.: Detection of anti-STH antibodies in man. Folia endocrin. (Pisa) 15, 163 (1962)
10. Dekaban, A.: Metabolic and chromosomal studies in Leprechaunism. Arch.Dis.Childh. 40, 632 (1965)
11. Frasier, D.S., Smith, F.G.: Antibodies to human growth hormone. Amer.J.Dis.Childh. 112, 383 (1966)

12. Grebe, H.: Erbllicher Zwergwuchs. *Ergebn. Inn. Med. Kinderheilk.* 12, 343 (1959)
13. Hartog, M., Fraser: The immunological assay of human growth hormone in human serum. *J. Endocr.* 22, 101 (1961)
14. Holmström, B., Phölenhag, K.: Characterization of human growth hormone preparations used for the treatment of pituitary dwarfism: A comparison of concurrently used batches. *J. Clin. Endocrin.* 40, 856 (1975)
15. Hubble, D.: Growth hormone deficiencies in childhood. *Canad. med. Ass. J.* 97, 1144 (1967)
16. Hunter, W. M., Greenwood, F. C.: Radioimmuno-electrophoretic assay for human growth hormone. *Biochem. J.* 91, 43 (1964)
17. Illig, R.: Growth hormone antibodies in patients treated with different preparations of human growth hormone (HGH). *J. Clin. Endocrin.* 31, 679 (1970)
18. -, : Antikörperbildung nach ETH-Behandlung. Adalbert-Loeschke-Gedächtnis-Symposium: Das somatotrope Hormon. Halle 1972
19. -, -, Prader, A., Ferrandez, A., Zachmann, M.: Familiärer pränataler Wachstumshormonmangel mit erhöhter Bereitschaft zur Bildung von Wachstumshormon-Antikörpern. *Symp. Dtsch. Ges. Endocrin.* 16, 246 (1970)
20. Joss, E. E., Zahnd, G. R.: Familiärer hypophysärer Zwergwuchs. *Schw. Med. Wschr.* 98, 705 (1968)
21. Kaplan, S. L., Abrams, C. A., Bill, J. J., Conte, F. A., Grumbach, M. M.: Growth and growth hormone. I. Changes in level of growth hormone following hypoglycemia in 134 children with growth retardation. *Paed. Res.* 2, 43 (1968)
22. Kunze, D., Murken, J. D.: Diagnostik von Längsenalter

- und Gewichtsalter mit neuen Somatogrammen.
Kinderarzt Heft 12, Band 5
23. Knobil, E., Greep, K.: The physiology of growth hormone with specific reference to its action in the Rhesus Monkey and the "species specificity problem". *Rec. Progr. Horm. Res.* 15, 1 (1959)
24. Knobil, E., Hotchkiss, J.: Growth hormone. *Ann. Rev. Physiol.* 26, 47 (1964)
25. Labhart, A.: Klinik der inneren Sekretion. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1971
26. Laron, Z., Pertzalan, A., Mannheimer, S.: Genetic pituitary dwarfism with high serum concentration of human growth hormone. A new inborn error of metabolism? *Israel J. med. Sci.* 2, 112 (1966)
27. Li, C. H., Papkoff, H.: Preparation and properties of growth hormone from human and monkey pituitary glands. *Science*, 124, 1293 (1956)
28. McKusick, V. A.: Genetic disorders involving growth hormone in man. *Progr. Endocrinol., Proc. 3. Int. Congr. Ed.: C. Gnal. Excerpta Medica, I. C. S.*, 184, 338 (1969) Amsterdam
29. Moe, J. P.: Hypopituitary dwarfism. The importance of early therapy. *Acta paediat. scand.* 57, 300 (1968)
30. Nitschke, U.: Familiärer Hypopituitarismus. Adalbert-Loeschke-Gedächtnis-Symposium. Halle, 1972, S. 317
31. Parker, M. L., Maritz, J. K., Daughaday, W. H.: Resistance to human growth hormone in pituitary dwarfism: Clinical and immunological studies. *J. Clin. Endocr.* 24, 997 (1964)
32. Prader, A., Wagner, H., Szeky, J., Illig, R., Touber, J. L., Maingay, D.: Acquired resistance to human growth hormone caused by specific antibodies. *Lancet*, 22, 578 (1964)

33. Prader, A., Illig, R., Szeky, J., Wagner, H.: The effect of human growth hormone in hypopituitary dwarfism. Arch.Dis.Childh. 39, 535 (1964)
34. Quabbe, H.J., Helge, H., Werner, E.: Antibodies to human growth hormone in pituitary and non-pituitary dwarfs. Clinical significance and reaction with two different preparations of human growth hormone. Acta Endocrinol.(Kbh.) Suppl. 119, 17 (1967) (abstr.)
35. Raben, M.S.: Preparation of growth hormone from pituitaries of man and monkey. Science, 125, 883 (1957)
36. Read, C.H., Stone, B.D.: An immunological assay for minute amounts of human pituitary growth hormone. Amer.J.Dis.Childh., 96, 538 (1958)
37. Reisfeld, R.A., Lewis, V.J., Brink, N.G., Steelmann, S.L.: Human growth hormone: preparation from acetone powder. Endocrinology, 71, 559 (1962)
38. Rhode, W., Peter, F., Grychtolik, H., Knappe, G., Lässig, G., Verron, G.: Antikörperbildung gegen Wachstumshormon bei Sotropin-H behandelten minderwüchsigen Patienten. Adalbert-Loeschke-Gedächtnis-Symposium: Das somatotrope Hormon. Halle, 1972 S.275
39. Rimoin, D.L., Merimee, D.J., McKusick, V.A.: Growth hormone deficiency in man: an isolated recessively inherited defect. Science, 152, 1635 (1966)
40. Roos, P., Fevold, H.R., Gemzell, C.A.: Preparation of human growth hormone by gel filtration. Biochem.Biophys.Acta, 74, 525 (1963)
41. Root, A.W., Bongiovanni, A.M., Eberlein, W.R.: Studies of the secretion and metabolic effects

- of human growth hormone in children with glucocorticoid-induced growth retardation. *J.Pediatr.* 75, 826 (1969)
42. Roth,J., Glick,S.M., Yalow,R.S., Berson,S.A.: Antibodies to human growth hormone (HGH) in human subjects treated with HGH, *J.Clin.Invest.*, 43, 1056 (1964)
43. -,--,:The influence of blood glucose on the plasma concentration of growth hormone. *Diabetes*,13, 355 (1964)
44. Sheikolislam,D.M., Stempfel,R.S.: Familial growth hormone deficiency. *Pediat.Res.* 1, 205 (1967)
45. Shizume,K., Matsuzaki,F., Irie,M., Osawa,N.: Results of long-term human growth hormone therapy for pituitary dwarfism. *Endocrinol.Jap.* 17, 297 (1970)
46. Spitz,L., Gonen,B., Rabinowitz,D.: Growth hormone release in man revisited: spontaneous versus stimulus- initiated tides. In:Growth and growth hormone (Hrsg.:A.Pecile and E.E.Müller). Amsterdam: Excerpta Medica 1972
47. Soyka,L.F., Bode,H.H., Crawford,J.D., Flynn,F.J.: Effectiveness of long-term human growth hormone therapy for short stature in children with growth hormone deficiency. *J.Clin.Endocrin.* 30, 1 (1970)
48. Steiner,M.M., Boggs,J.D.: Absence of pituitary gland, hypothyroidism, hypoadrenalism and hypogonadism in a 17-year-old dwarf. *J.Clin.Endocr.* 25, 1951 (1965)
49. Stubbe.P.: Die Entwicklung von Antikörpern gegen menschliches Wachstumshormon bei hypophysär Minderwüchsigen in Abhängigkeit von der Dauer der Behandlung. 69.Tagung der Deutschen Gesellschaft für Kinderheilkunde. Bad Pyrmont, 9.-11. Okt. 1972

50. Szekey, J., Hässig, A., Prader, A.: Über Antikörper gegen menschliches Wachstumshormon vom Typ Raben bei Patienten mit Zwergwuchs. *Helv. Paed. Acta*, 17, 411 (1962)
51. Trygstad, O.: Human growth hormone and hypopituitary growth retardation. *Acta paed. scand.* 58, 407 (1969)
52. Trygstad, O., Foss, I.: Preparation of purified human growth hormone and a crude human pituitary gonadotrophin. *Acta Endocrin.* 66, 478 (1971)
53. Trygstad, O., Seip, M.: Hereditary pituitary dwarfism treated with human growth hormone. *Acta paed. scand.* 53, 527 (1964)
54. Tympner, K.D.: Die Bedeutung der Immunglobuline (IgM und IgA) für die Diagnose und Therapie in der Kinderheilkunde. *Habil.schr. München* 1971
55. Waldhäusl, W.K., Rath, F.: Development of antibodies to human growth hormone (HGH) in children with short stature treated with HGH. *Acta Endocrin.* 68, 345 (1971)
56. Westphal, O.: Human growth hormone. A methodological and clinical study. *Acta paed. scand. Suppl.* 182, (1968)
57. Wilhelmi, A.E.: Systematic fractionation of human pituitaries. *Ciba Found. Coll. Endocr.* 13, 25 (1960)
58. Witebsky, E., Rose, N.R., Terplan, K., Paine, J.R., Egan, R.W.: *J. Amer. med. Ass.* 164, 1439 (1957)
59. Yagi, Y., et al.: Multiplicity of insulin binding antibodies in human sera, *J. Immunol.* 90, 760 (1963)

Ich danke Herrn Privatdozent Dr. O. Butenandt für die Überlassung des Themas sowie für seine Verbesserungsvorschläge und seine Geduld. Für die Überlassung der Daten der Insulintoleranz- und Stickstoffretentionstests bedanke ich mich sehr.

Herrn Privatdozent Dr. K.J. Tympner und seinen Mitarbeitern bin ich für die Durchführung der Diskelektrophorese zu Dank verpflichtet. Ferner möchte ich mich bei Frau Dr. Illig (Paed. Universitätsklinik Zürich) für die Zusendung des Antikörper-Serums bedanken.

Schließlich geht mein Dank an Herrn Dr. v. Werder (II Med. Klinik d. Universität München) für die freundliche Übergabe des NIH-HGH-Wilhelmi-Präparates.

Meiner Frau danke ich für ihre Unterstützung.

Lebenslauf

Ich bin am 3.4.1940 in Athen/Griechenland geboren.
Mein Vater Iason Clados, war als Ingenieur in Athen
tätig. Meine Mutter Evangelia Clados, ist verstorben.
Von 1947-1952 besuchte ich die Volksschule in Neon
Iraklion bei Athen und trat dann in das Realgymna-
sium in Athen ein.

Nach dem Abitur im Jahre 1959 war ich über 7 Jahre
als Krankenpfleger tätig.

Im Jahre 1969 begann ich das Medizinstudium in
München, das ich am 18.6.1975 mit dem Staats-
examen abschloß.

Seit dem 24.4.1974 bin ich mit Adelheid Clados ge-
borene Kelch verheiratet.

